

## カゼイン蛋白分屑のヨード化（予報）

著者	石川 信雄，武藤 玲子，竹石 トシ子
雑誌名	星薬科大学紀要
号	5
ページ	16-18
発行年	1956
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1240/00000002/">http://id.nii.ac.jp/1240/00000002/</a>

## カゼイン蛋白分層のヨード化(予報)

石川信雄 武藤玲子 竹石トシ子

先に湊等は<sup>1)</sup> ヨードカゼイン中の異種ヨード除去に電解透析法を応用する新法を報告して居る。その際異種ヨード除去終了後も更に引き続き長時間の透析操作を実施する時は有機性ヨードの一部が再び離脱を起すことを発見した。我々はこの再離脱現象に興味を抱きその理由を究明する目的を以て本研究を開始した。詳細は後刻薬学雑誌上に発表する予定であるが現在までの研究の一部を報告する次第である。

カゼイン中のチロジン含有量 6.7% より計算するとき理論量 7.5% のヨードカゼインに於てはヨードが芳香環と強固な結合状態にある筈である。即ち加水分解によりても遊離ヨードの増加は認められない訳である。然るに長時間電解透析によれば総ヨード量の一部離脱を起し 4.8% に至つて平衡に達する。このヨード離脱現象の説明として我々は、次の二点を考えている。

i) チロジン基の一部は遊離フェノール型でない為に完全なヨード結合が阻害される。

ii) カゼイン蛋白の各分層が夫々異なるヨード結合比率を有する為一部に過剰ヨード附加現象が起る。

以上の離脱現象の研究として先づ低温法により製せられたヨードカゼインを用いて<sup>2)</sup> 濾紙電気泳動を行つた。

### 濾紙電気泳動

低温ヨード化法により注意して作成せるヨードカゼイン(ヨード含量 6.8%) を実験の部記載の条件下に濾紙電気泳動を実施した。緩衝液としては磷酸系よりもベロナール系緩衝液を用いる方が好成績を得た。泳動後の移動度の判定は B. P. B 染色法を用いパラフィン固定処理をなし、然る後デンストメーターにて吸光度を測定

した。以上の方法により極めて鮮明なる三成分の分離像を得る事が出来た(Fig 1) 泳動図に見

Buffer solu : Veronal Buffer (PH8.6)  
Voltage : 200V  
Time : 3 hours  
Detection : B. P. B Reagent

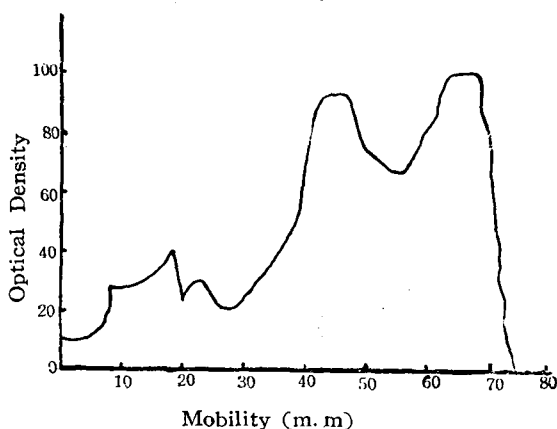
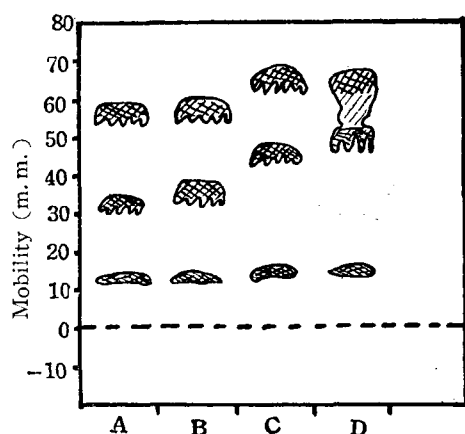


Fig 1. The Paper-Electrophoresis of Iodocasein

る如く移動度大なる分層は吸光度も亦大であり $\alpha$ ヨードカゼインの泳動部分と考えられる。移動度の小なる分層は $\beta$ ヨードカゼイン部分と一致し濃度も亦小である。

之に反して incubate した所謂高温ヨード化法によるヨードカゼイン(サイロプロテイン)は全く異なる泳動図を示す(Fig 2) 即ち移動度は $\alpha$ -及 $\beta$ -分層の中間にあり、然も Fig 1 と同一条件下に於ては判然たる分離像を呈さない。この事は incubate 操作によりヨードカゼインは相当大なる分子内変化を起して居る事を示して居ると思惟する。又 4% ヨード含量ヨードカゼイン及び未処理カゼインの泳動図を比較した結果(Fig 2) 標準カゼインと 4% ヨードカゼインは殆んど同一移動度を示すが、7% ヨードカ



A = Casein  
B = Iodocasein(4 %)  
C = Iodocasein(7 %)  
D = Iodocasein(incubated)

Fig. 2. Comparative Mobility of Various Iodocaseins by Paper Electrophoresis

ゼインに於て  $\alpha$ - $\beta$ - 両部分とも移動度が大きくなることが分つた。

#### $\alpha$ -ヨードカゼインの精製

以上の電気泳動の実験より見て今まで単にヨードカゼインと称せられて居たものを  $\alpha$ - $\beta$ - の二主成分に分けて考える必要が生じて来た。従つて標準品としての  $\alpha$ - 及  $\beta$ - ヨードカゼインを調製する実験を行つた。

先づカゼインを Warner<sup>3)</sup> 法を用いて分割を行つて見た。 $\alpha$ - カゼインに比し  $\beta$ - 体は非常に分離量が不良であつた。現在尿素法<sup>3)</sup> アルコール法<sup>3)</sup> を用いて研究中である。

アセトン乾燥せる  $\alpha$ - カゼイン  $\beta$ - カゼインのチロジン量は夫々 8.0%, 3.4% であつた。

本品を用いて低温ヨード化を実施して得た  $\alpha$ - 及  $\beta$ - ヨードカゼインの分析値は Table 1 の如くである。

	N%	I%	P%
$\alpha$ -Iodocasein	16.7	8.2	1.07
$\beta$ -Iodocasein	16.3	4.8	0.64

Table I Elementary Composition of Iodocasein.

#### $\alpha$ -ヨードカゼインの滴定曲線

$\alpha$ -ヨードカゼインの滴定曲線を リンダース チャレームの方法<sup>4)</sup> で作成し  $\alpha$ -カゼインがヨード化により如何に変化するかを比較して見た。その結果 4%ヨード含量の  $\alpha$ -ヨードカゼインは原蛋白と殆んど見るべき差異を呈しなかつたが 8%ヨード含量のヨード化蛋白に於ては PK9.8~10.4 部分に曲線の差異が表われヨード化の影響が見られた (Fig 3)。

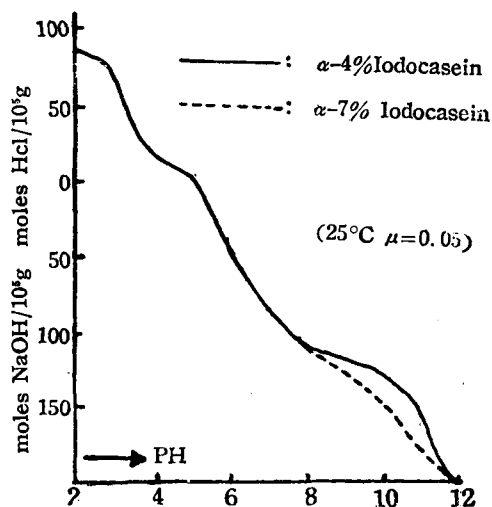


Fig 3. Titration Curve of  $\alpha$ -Iodocasein

#### ヨードカゼインのヨード吸収曲線

精製カゼイン 5g に低温ヨード化を実施せる時のヨード添加量とヨード結合量との関係を追

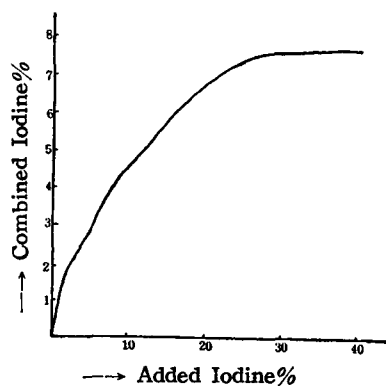


Fig 4. Correlation between Added and Combined Iodine Percentages

跡した。 $\alpha$ - $\beta$ -混合状態に於てはヨード含量 7.7 以上に低温ヨード化では反応が進み難く平衡状態に達するらしい事が分る。(Fig 4)

## 実験の部

### 低温ヨード化

精製カゼイン(市販脱脂乳より Org. Synth<sup>9</sup>)の方法により作成) 5g を 0.02mol 炭酸ナトリウム 0.1mol 重炭酸ナトリウム混液 200cc に溶解し 0.1N ヨード + 0.2mol ヨードカリ混液の 200c. c を 2 時間以内に徐々に加える。始め PH 9.23 であるが一定時間後に PH 9.03 となる。この時期に於て 1N チオ硫酸ナトリウムを以て脱色せしめ次に PH 5 調製された 0.01mol 酸性亜硫酸ナトリウム 2 L のを外液としてセロファン膜透析をなす。次に内液を PH 6.8 となし蒸留水を以て 24 時間透析する。然る後醋酸アルコール (PH 4.8) 液中に注加し得たる沈澱を遠心しアセトン乾燥する。

### 高温ヨード化

精製カゼイン 10gr を水 400cc 及重炭酸ナトリウム 3gr を用いて溶解し 37°C 攪拌粉末ヨード 2gr を少量宛加える。添加終了後 2 時間攪拌を続行し後 50°C に反応温度を上昇せしめ該温度にて 18 時間強攪拌を持続する。次に 10% 硫酸を以てヨード体を沈澱せしめ水洗後

再び可及的少量の水酸化ナトリウムの添加により 400cc の温水に溶解せしめ蒸留水を以て透析し無機塩を除去する。次に溶液を同量の酢酸酸性アルコール中に攪拌しつつ徐々に注加する。沈澱を吸引濾過しアルコールアセトン混液を以て洗滌後乾燥する。

### 濾紙電気泳動

装置は Grassmann 式<sup>9)</sup> を自製して使用した。PH 8.6 ペロナル緩衝液を以て湿潤せしめた濾紙 (No 50, 4×40cm) にヨードカゼイン 1% 液 0.01cc を添付し 200 ボルト直流 (電流密度 2~4mA) 定電圧 3 時間泳動せしめる。後室温乾燥せしめ、1% B. P. B 液にて染色せしめる。パラフィン固定後デンストメーター測定は橙色フィルターを以て実施した。

- 1) 湊顕; 薬誌: **71**, 578 (1951)
- 2) R. C. Warner: J. Am. Chem. Soc. **66** 1725 (1944)
- 3) N. J. Hipp: J. Dairy Sci. **35** 272 (1952)
- 4) Linderström-Lang: Trans Faraday Soc. **31** 324 (1935)
- 5) Org. Syntheses: Coll. Vol. **2**, 120 (1943)
- 6) W. Grassmann: Z. Physiol. **290** 1 (1952)